

## Prevalence of Extended-Spectrum Beta Lactamase in Entrobacteriaceae Isolated from Urinary Tract Infections in Ardabil, Iran

Akbari M<sup>1</sup>, Amir Mozaffari N<sup>2</sup>, Peeri Dogahneh H<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Islamic Azad University of Karaj, Alborz, Iran

<sup>2</sup>Department of Microbiology, School of Medicine, Iran University of Medical Science, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department of Microbiology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Science, Ardabil, Iran

\*Corresponding Author. Tel: +984533522391 Fax: +984533522086 E-mail: h.peeridogaheh@arums.ac.ir

Received: 11 Nov 2013 Accepted: 13 Sep 2014

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Urinary tract infections (UTIs) caused by extended-spectrum beta lactamase (ESBL)-producing bacteria have become a growing problem worldwide. The aim of this study was to investigate the prevalence of ESBL-producing bacteria in urine samples of hospitalized patients in Imam Khomeini hospital of Ardabil over a period of October 2011 to August 2012.

**Methods:** A total of 400 urinary pathogens isolated from urine samples were included in the study. All isolates were identified by routine biochemical methods and antimicrobial susceptibility testing carried out by Kirby-Bauer method. Confirmatory test for production of ESBLs was performed by the combination disk tests. The results were interpreted according to the recommendation of CLSI.

**Results:** Of 400 isolated bacteria, 267 were *E.coli*, 39 *Klebsiella pneumoniae*, 17 *Klebsiella oxytoca*, 16 *Enterobacter cloacae*, 15 *Enterobacter aerogenese*, 6 *Enterobacter agglomerans*, 8 *Enterobacter sakazakii*, 3 *Citrobacter freundii*, 2 *Citrobacter diversus*, 3 *Proteus mirabilis*, 4 *Edwardsiella tarta*, 3 *Serratia marcescens* and 17 *Morganella morganii* all of which then were analyzed. ESBL was detected in 36.75% (147) of isolates. One Hundred Fourteen *E.coli* cases (77.5%), 15 *Klebsiella pneumonia* (10.2%), 5 *Klebsiella oxytoca* (3.4%), 4 *Enterobacter aerogenese* (2.72%), 4 *Enterobacter cloacae* (2.72%), 1 *Citrobacter freundii* (0.68%), and 1 *Morganella morganii* (0.68%) were detected as ESBLs producers, respectively.

**Conclusion:** Based on the results of this study, broad-spectrum beta-lactamase production in bacterial strains isolated from patients with urinary tract infection was very high and almost 40% of all bacterial species isolates were ESBLs producers. Because of the high prevalence of ESBL-producing bacteria in the urinary tract infections in hospitalized patients of our area, we would strongly suggest that the ESBL production should be considered in these patients.

**Keywords:** Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL), Entrobacteriaceae, Urinary Tract Infections, Disk Diffusion

## بررسی فراوانی آنزیم ESBL در انتروباکتریاسه‌های جدا شده از عفونت دستگاه ادراری از بیمارستان امام خمینی (ره) اردبیل

معصومه اکبری<sup>۱</sup>، نورامیر مظفری<sup>۲</sup>، هادی پیری دوگانه<sup>۳\*</sup>

<sup>۱</sup> گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، البرز، ایران <sup>۲</sup> گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی

ایران، تهران، ایران <sup>۳</sup> گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۳۵۲۲۳۹۱ فاکس: ۰۴۵۳۳۵۲۲۰۸۶ پست الکترونیک: h.peeridogaheh@arums.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** عفونت‌های دستگاه ادراری ناشی از باکتری‌های مولد آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف وسیع (ESBL) در حال تبدیل به یک مشکل رو به رشد در سراسر جهان می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی شیوع باکتری‌های مولد آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف وسیع در نمونه ادرار بیماران بستری در بیمارستان امام خمینی (ره) اردبیل در یک دوره زمانی معین (از اکتبر ۲۰۱۱ تا اوت ۲۰۱۲) بود.

**روش کار:** در مجموع ۴۰۰ پاتوژن جدا شده از نمونه‌های ادراری در این مطالعه وارد شدند. تمام نمونه‌ها با روش‌های معمول بیوشیمیایی مورد شناسائی قرار گرفته و تست حساسیت ضد میکروبی با استفاده از روش کربی-بائر انجام شد. آزمون تأییدی برای تولید ESBLs توسط تست دیسک ترکیبی انجام شد. نتایج بر اساس دستورالعمل CLSI تفسیر شدند.

**یافته‌ها:** از ۴۰۰ باکتری جدا شده، ۲۶۷ اشیریشیا کلی، ۳۹ کلیسیلا پنومونیه، ۱۷ کلیسیلا اکسی توکا، ۱۶ انتروباکتر کلوآکه، ۱۵ انتروباکتر آئروژنز، ۶ انتروباکتر آگلومرانس، ۸ انتروباکتر ساکازاکی، ۳ سیتروباکتر فروندی، ۲ سیتروباکتر دیپروسوس، ۳ پروتئوس میرابیلیس، ۴ ادواریسیلا تارتا، ۳ سراشیا مارسسنس، ۱۷ مورگانلا مورگانی بودند که مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. آنزیم‌های بتالاکتاماز با طیف وسیع در ۳۶/۷۵ (۱۴۷) از باکتری‌های جدا شده شناسایی شد. تولید ESBL به ترتیب در ۱۱۴ اشیریشیا کلی (۷۷/۵)، ۱۵ کلیسیلا پنومونیه (۱۰۰/۲)، ۵ کلیسیلا اکسی توکا (۳/۴)، ۴ انتروباکتر آئروژنز (۲/۷۲)، ۴ انتروباکتر کلوآکه (۲/۷۲)، ۱ سیتروباکتر فروندی (۰/۶۸)، و ۱ مورگانلا مورگانی (۰/۶۸) مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه، تولید بتالاکتاماز طیف وسیع در باکتری جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بسیار بالا بود و تقریباً ۴۰ درصد گونه‌های باکتریایی جدا شده مولد ESBLs بودند. از آنجائیکه در منطقه ما باکتری‌های مولد ESBL در عفونت‌های دستگاه ادراری در بیماران بستری در بیمارستان از شیوع بالای برخوردار است، ما قویاً توصیه می‌کنیم که تولید ESBL در این بیماران در نظر گرفته شود.

**کلمات کلیدی:** انتروباکتریاسه، عفونت ادراری، بتالاکتامازهای با طیف وسیع، دیسک دیفیوژن

دریافت: ۹۲/۸/۲۰ پذیرش: ۹۳/۶/۲۲

### مقدمه

بتالاکتامازها مهم‌ترین آنزیم‌های تخریب‌کننده‌ای هستند که به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام حمله ور میشوند. این آنزیم‌ها یک اتصال آسپیل کووالانست را از طریق گروه کربوکسیل حلقه بتالاکتام به وجود می‌آورند که حاصل آن باز شدن حلقه بتالاکتام و غیرفعال شدن دارو می‌باشد [۱]. آنزیم‌های بتالاکتاماز در

باکتری‌ها متنوع‌اند و در پاسخ به فشار انتخابی آنتی‌بیوتیک‌ها دائماً در حال موتاسیون یا جایگزینی اسیدهای آمینه به ویژه در جایگاه فعال آنزیم هستند به طوریکه باعث ظهور انواع جدیدی از بتالاکتامازهای با طیف وسیع (ESBL)<sup>۱</sup> شده است [۲]. بتالاکتامازهای وسیع الطیف آنزیم‌هایی هستند که محدوده طیف اثر وسیعی

<sup>۱</sup> Extended Spectrum Beta Lactamase

سیترات- MR, VP, SIM - اوره - لیزین  
دکربوکسیلاز- حرکت- H<sub>2</sub>S استفاده گردید.

### ارزیابی حساسیت ضد میکروبی

حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی تمامی سویه ها به روش دیسک آگار دیفیوژن (Kirby-Bauer) انجام گرفت. آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده شامل کوتریموکسازول- سفکسیم- جنتامایسین- آمپی سیلین- سفی زوکسیم- سفتریاکسون- سیپروفلوکسازین- نالیدیکسیک اسید بودند که ساخت شرکت پادتن طب- ایران بودند.

### ارزیابی تولید آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف

غربالگری ارگانیزم های تولید کننده ESBL با استفاده از پروتکل CLSI و به روش DDST انجام گرفت در این روش ابتدا از کشت خالص باکتری ها سوپانسیون با کدورت ۵/۰ مک فارلند تهیه شد و به وسیله سوآپ استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد ۱۵ دقیقه پس از کشت باکتری، دیسک های سفنازیدیم (CAZ:30μg) و سفوتاکسیم (CTX:30μg) به همراه سفنازیدیم /کلاولونیک اسید (CAZ:30μg/CA10μg) و سفوتاکسیم/کلاولونیک اسید (CTX:30μg/CA10μg) (ساخت شرکت روسکو-اسکاتلند) با فاصله ۲۰ میلی متر مرکز به مرکز دیسک ها قرار داده شد. بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه، تولید ESBL از طریق افزایش قطر هاله عدم رشد به اندازه ۵ میلی متر یا بیشتر در اطراف دیسک سفنازیدیم /کلاولونیک اسید یا سفوتاکسیم کلاولونیک اسید مشخص گردید [۱۲،۸،۵] از E.coli ATCC 25922 و K.pneumoniae ATCC 700603 به ترتیب به عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده گردید [۱۴،۱۳،۸،۵].

نتایج سنجش حساسیت به روش دیسک دیفیوژن و تست اولیه و تائیدی تولید آنزیم های طیف وسیع (ESBL) بر اساس معیار های CLSI تفسیر گردید [۱۵].

بر روی پنی سیلین ها و سفالوسپورین ها و آزترونام ها دارند اما این آنزیم ها تاثیری بر روی سفامایسین ها یا کربانیم ها ندارند [۳-۶] و توسط عوامل بازدارنده بتالاکتامازها همانند کلاولونیک اسید و تازوباکتام بازداشته می شوند [۶-۸].

اولین ایزوله های تولید کننده ESBL در سال ۱۹۸۳ در آلمان گزارش گردید [۴-۹]. اما امروزه پاتوژن های تولید کننده ESBL عامل اصلی عفونت های بیمارستانی همانند عفونت ادراری- عفونت های وابسته به کاترها- مننژیت نوزادی- عفونت های دستگاه تنفسی و سپسیس بوده و به سرعت در حال افزایش هستند [۱-۱۰]. درمان عفونت های ایجاد شده توسط باکتری های مولد این آنزیم ها بغرنج است و به صورت یک مشکل جهانی درآمده است زیرا از یک سو مقاومت به طیف وسیعی از آنتی بیوتیک های بتالاکتامی مشاهده میشود و از سوی دیگر ژن های ESBL بر روی پلاسمید بزرگی حمل میشود که به راحتی در میان انتروباکتریاسه ها انتقال می یابد و تجمع ژنهای مقاومت منجر به تولید سویه های پلاسمیدی با مقاومت های چندگانه می گردد [۱۱] که این امر با شکست درمانی عفونت ها و افزایش مرگ و میر بیماران و بالا رفتن بار مالی درمان رابطه دارد.

با توجه به اینکه هیچ گزارش مستندی مبنی بر میزان شیوع این آنزیم در شهر اردبیل وجود نداشت، لذا بر آن شدیم تا فراوانی انتروباکتریاسه های تولید کننده ESBL را در ایزوله های جدا شده از عفونت ادراری بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی شهر اردبیل را بررسی کنیم.

### روش کار

#### سویه های باکتریایی

در این مطالعه مقطعی- توصیفی، تعداد ۴۰۰ باکتری جدا شده از بیماران سرپایی و بستری مبتلا به عفونت ادراری مراجعه کننده به بیمارستان امام شهر اردبیل از آذر ماه سال ۱۳۹۰ تا شهریور ماه ۱۳۹۱ جمع آوری شدند. برای تشخیص این سویه ها از روش های بیوشیمیایی همانند رشد در محیط TSI- سیمون

## یافته ها

از تعداد ۴۰۰ باکتری جدا شده ۳۱۵ مورد (۷۹٪) مربوط به زنان و ۸۵ مورد (۲۱٪) مربوط به مردان بودند. در توزیع سنی بیماران بر طبق نمودار ۱، در افراد بالای ۶۰ سال بیشتر از سایر سنین بود و فراوانی سنین ۱۵-۳۰ ساله در رتبه بعد قرار داشت که شامل سنین فعال از نظر جنسی می باشد. از کل نمونه های جمع آوری شده ۱۵۰ نمونه (۳۷/۵٪) مربوط به بیماران سرپایی و ۲۵۰ نمونه (۶۲/۵٪) مربوط به بیماران بستری در بخش های مختلف بیمارستان بود. در فراوانی سویه های جدا شده بیشترین مورد مربوط به اشریشیاکلی با ۲۶۷ مورد (۶۷٪) بود که شایع ترین عامل پاتوژن عفونت دستگاه ادراری اشریشیاکلی می باشد و بقیه عوامل در جدول ذکر شده اند (جدول ۱).

جدول ۱. فراوانی سویه های باکتریایی مورد مطالعه

سویه	تعداد	درصد
اشریشیاکلی	۲۶۷	۶۶/۷۵
کلیسیلا پنومونیه	۳۹	۹/۷۵
کلیسیلاکسی توکا	۱۷	۴/۲۵
مورگانلا مورگانی	۱۷	۴/۲۵
انتروباکتر کلوآکه	۱۶	۴
انتروباکتر آئروژنز	۱۵	۳/۷۵
انتروباکتر ساکازاکی	۸	۲
انتروباکتر آکلو مرنس	۶	۱/۵
ادواردسیلا تاردا	۴	۱
پروتئوس میرابیلیس	۳	۰/۷۵
سراشیا مارسنس	۳	۰/۷۵
سیتروباکتر فروندی	۳	۰/۷۵
سیتروباکتر دایورسوس	۲	۰/۵
کل نمونه ها	۴۰۰	۱۰۰

از بین ۴۰۰ ایزوله مورد بررسی در این مطالعه ۱۴۷ ایزوله (۳۶/۷۵٪) ESBL تولید می کردند (جدول ۲). توزیع جنسی در سویه های ESBL مثبت به این صورت بود که ۱۰۵ مورد (۷۰٪) مربوط به زنان و ۴۵ مورد (۳۰٪) مربوط به مردان بود. از ۱۴۷ ایزوله ESBL مثبت ۱۰۸ مورد (۷۳/۴۶٪) مربوط به بیماران بستری در بخش های مختلف بیمارستان و ۳۹ مورد (۲۶/۵۴٪) مربوط به بیماران سرپایی می باشد. بیشترین میزان حساسیت در ایزوله های ESBL مثبت مربوط به

جنتامایسین با تعداد ۵۵ مورد (۳۶/۷٪) و کمترین میزان حساسیت مربوط به آمپی سیلین با صفر درصد می باشد (جدول ۳).

جدول ۲. فراوانی سویه های ESBL مثبت و منفی بر حسب نوع باکتری

سوش	موارد ESBL مثبت	موارد ESBL منفی
اشریشیاکلی	۱۱۴	۱۵۳
کلیسیلا پنومونیه	۱۵	۱۴
کلیسیلاکسی توکا	۵	۱۲
انتروباکتر کلوآکه	۴	۱۲
انتروباکتر آئروژنز	۴	۱۱
سراشیا مارسنس	۲	۱
سیتروباکتر فروندی	۱	۱
مورگانلا مورگانی	۱	۱۶
ادواردسیلا تاردا	۱	۳
کل	۱۴۷	۲۵۳

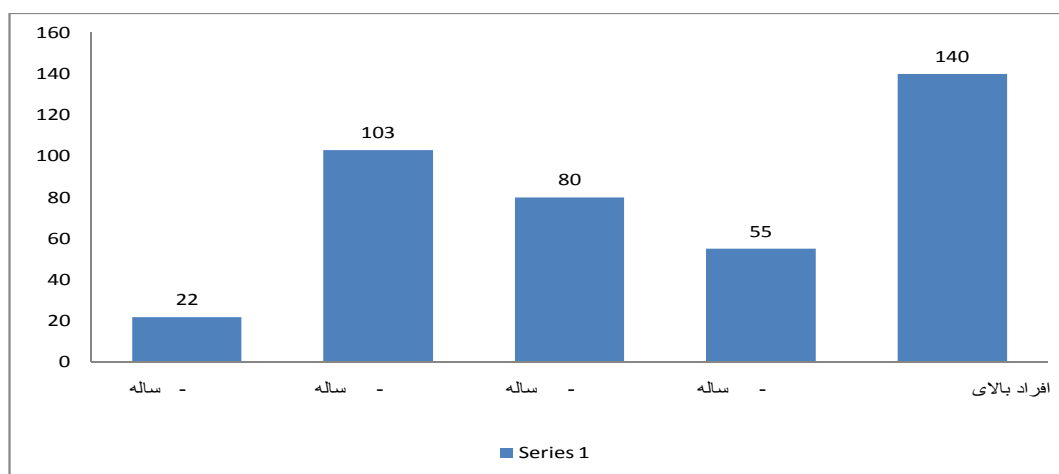
## بحث

با بروز ایزوله های مقاوم به آنتی بیوتیک ها، انتروباکتریاسه های مقاوم به آنتی بیوتیک ها نیز با فراوانی قابل توجهی از عفونت ادراری جدا می شوند. آگاهی ما در زمانهای مختلف از فراوانی این ایزوله های مقاوم باعث خواهد شد تا میزان تاثیر داروهای مختلف در درمان عفونت های شایع مخصوصا در درمان های تجربی افزایش یابد [۱۶]. نتایج آنتی بیوگرام اولیه حاکی از حساسیت بسیار پایین همه سویه ها به آمپی سیلین با ۷/۵ و حساسیت نسبتا بالا به جنتامایسین با ۵۹/۵ می باشد. بر همین اساس در تجویز دو آنتی بیوتیک سفتریاکسون و سفتری زوکسیم باتوجه به حساسیت حد واسطه سویه ها باید دقت و مطالعه بیشتری صورت پذیرد. میزان حساسیت نسبتا پایین سویه ها به آنتی بیوتیک سفکسیم که به گرایش زیاد به استفاده از این آنتی بیوتیک در سالهای اخیر بر میگردد میتواند نگران کننده باشد. حساسیت نسبتا بالا به آنتی بیوتیک جنتامایسین نشان می دهد که این دارو از موقعیت نسبتا خوبی برای درمان عفونت های ادراری برخوردار است این مسئله میتواند به دلیل مصرف

جدول ۳. تعداد و درصد حساسیت باکتریهای ESBL مثبت و منفی نسبت به آنتی بیوتیک ها

آنتی بیوتیک	ESBL منفی (n=۲۵۳) درصد	ESBL مثبت (n=۱۴۷) درصد	کل (n= ۴۰۰)
کوتری موکسازول	۵۹/۲(۱۵۰)	۱۸/۳(۲۷)	۴۴/۲(۱۷۷)
سفسکسیم	۳۵/۶(۹۰)	۲۴/۵(۳۶)	۳۱/۵(۱۲۶)
جنتامایسن	۷۲/۳(۱۸۳)	۳۷/۴(۵۵)	۵۹/۵(۲۳۸)
سیپروفلوکسازین	۷۰/۴(۱۷۸)	۳۲(۴۷)	۵۶/۳(۲۲۵)
آمپی سیلین	۱۱/۹(۳۰)	۰(۰)	۷/۵(۳۰)
سفتراکسون	۷۳/۱(۱۸۵)	۱۷(۲۵)	۵۲/۵(۲۱۰)
نالبیدیکسیک اسید	۶۵/۶(۱۶۶)	۱۶/۳(۲۴)	۴۷/۵(۱۹۰)
سفتی زوکسیم	۷۷(۱۹۵)	۲۰/۴(۳۰)	۵۶/۳(۲۲۵)

نمودار ۱. توزیع جنسی بیماران



پایین این دارو و گرایش زیاد به استفاده از سفکسیم و سیپروفلوکسازین در سالهای اخیر روی داده باشد. در این مطالعه میزان تولید ESBL در ۴۰۰ ایزوله انتروباکتریاسه جدا شده از عفونت ادراری که باروش دیسک دیفیوژن انجام گرفت (۳۶/۷۵٪) بود. در مطالعاتی که در ایران و سراسر دنیا با روش مشابه صورت گرفته است، نتایج متفاوتی از نظر میزان تولید ESBL در انتروباکتریاسه ها را نشان داده است. در مطالعه دکتر تشکری و همکارانش در رفسنجان، مجموعاً ۱۹/۸۶٪ ایزوله ها نسبت به سفالوسپورین های نسل سوم مقاومت نشان دادند که ۱۰/۲۷٪ آنها از نظر تولید ESBL مثبت بودند [۱۷]. در مطالعه دکتر نخعی مقدم در مشهد، برای شناسایی ایزوله های مولد بتالاکتاماز تعداد ۳۵ ایزوله (۳۲/۱۱٪) ESBL مثبت از

۱۰۹ باکتری جدا شده. دارای تست مثبت از نظر بتالاکتاماز طیف وسیع بودند [۱۸]. در مطالعه پروزی و همکارانش در تهران، مشخص گردید از مجموع ۶۲۰ نمونه جدا شده، ۱۳۲ سویه (۲۱٪) مولد آنزیم بتالاکتاماز و همچنین از ۱۱۵ نمونه کلبسیلا پنومونیه، ۱۸ مورد (۱۵٪) مولد آنزیم بتالاکتاماز بودند [۱۹]. در مطالعه بابایی و همکاران در گرگان، مقاومت به سفوتاکسیم در ۷۰ ایزوله اشرشیاکلی مشاهده شد که از این تعداد (۸۸/۶٪) ۶۲ نمونه در تست تأییدی به عنوان ESBLs شناسایی شدند [۲۰]. در مطالعه شریفی یزدی و همکارانش در خوی، که از کل ۱۸۸ ایزوله اشرشیاکلی ۵۶ (۲۹/۸٪) ایزوله تولید کننده ESBL می باشند [۲۱]. در مطالعه میرصالحیان و همکارانش در تهران از بین ۳۹۴ سویه اشرشیاکلی

زیاد افرادی که این باکتریها از آنها جدا شده بود نسبت داد. زیرا هر دو عامل (بستری بودن در بیمارستان و سن زیاد) شانس مصرف آنتی بیوتیک و متعاقبا پیدایش گونه های مقاوم را افزایش می دهد.

### نتیجه گیری

بر طبق نتایج حاصل از این مطالعه، نشان داده شد که این آنزیم ها در شهر اردبیل از شیوع نسبتا بالایی برخوردار می باشد. با توجه به اهمیت این موضوع در بحث درمان و سلامت عمومی و هزینه های ناشی از این موضوع، پیشنهاد می گردد که آزمایشات مربوط به غربالگری فنوتیپی ESBL براساس CLSI در نمونه های به دست آمده از عفونت ادراری بیماران بخصوص بیماران بستری، به صورت روتین در آزمایشگاهها صورت گیرد تا از استفاده طولانی و نابجای آنتی بیوتیک ها و نیز شکست های درمانی جلوگیری گردد.

۲۵/۲۵٪ تولید کننده ESBL بودند [۲۲]. در مطالعه شاهچراغی و همکارانش در تهران ۱۰۵ نمونه (۵۲/۵٪) دارای ژن های ESBL بودند [۲۳].

در مطالعه ی Moyo، در تانزانیا از تعداد کل ۲۷۰ مورد پاتوژن های ادراری E.Coli و گونه های کلبسیلا ۱۲۲ مورد (۴۵/۲٪) ESBL تولید می کردند [۲۴].

در مطالعه Kader و همکارانش در عربستان تعداد کل ۲۴۵۵ نمونه ی بالینی اشرشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه برای تولید ESBL مورد آزمایش قرار گرفتند که ۲۶۸ مورد (۱۱٪) ESBL تولید می کردند [۲۵]. میزان شیوع ESBL ها در نمونه های جداسازی شده از کشورهای مختلف و حتی از یک بیمارستان در یک کشور با بیمارستان دیگر در همان کشور میتواند تفاوت زیادی داشته باشد [۲۶].

میزان فراوانی نسبتا زیاد باکتریهای تولید کننده آنزیم های با طیف وسیع در این مطالعه را می توان تعداد زیاد بیماران بستری در مقایسه با افراد سرپائی و سن نسبتا

### References

- 1- Brooks GF, Butel JS, More SA. Medical Microbiology. 22<sup>nd</sup> ed. United States of America, McGraw Hill. 2000; PP: 145.
- 2- Samaha-Kfoury JN, Araj GF. Recent development in  $\beta$ -lactamase and extended spectrum  $\beta$ -lactamases. B M J. 2003 Nov; 327: 1209-13.
- 3-Jeong HS, Song W, Park JM, Kim HS, Bae IK, et al. Boronic acid disk tests for identification of extended-spectrum lactamase production in clinical isolates of Enterobacteriaceae producing chromosomal Amp C Beta lactamases. Int J Antimicrob Agents. 2008; 31: 467-471.
- 4- Chaudhary U, Aggarwal R. Extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) - an emerging threat to clinical therapeutics. Indian J Med Microbiol. 2004. 22:75-80.
- 5- Mehrang H, Rahbar M. Prevalence Of extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in a tertiary care hospital in Tehran, Iran. Int J Antimicrob Agents. 2008;31:147-151.
- 6- Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005; 18: 657-686.
- 7- Al-Zahrani AJ, Akhtar N. Susceptibility patterns of extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in a teaching hospital. Pakistan J Med Res. 2005 Apr; 44(2): 64-7.
- 8- Hadziyannis E, Tuohy M, Thomas L, Procop W G, Hall SG. Screening and confirmatory testing for extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis. 2000; 36: 113-117.
- 9- Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection. 1983; 11: 315-317.

- 10- Yagi T, Wachino JI, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, et al. Practical Methods Using Boronic Acid Compounds for Identification of Class C  $\beta$ -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. J Clin Microbiol. 2005; 43(6): 2551-58.
- 11- Sturenburg E, Mack D. Extended spectrum beta-lactamases: implication for the clinical microbiology, therapy and infection control. J Infect. 2003 Nov; 47:273-958
- 12- Sinha M, Srinivasa H, Macaden R. Antibiotic resistance profile & extended spectrum betalactamase (ESBL) production in Acinetobacter Species. Indian J Med Res. 2007 Jul; 127: 63-7.
- 13- Kalantar D, Mansouri S. Emergence of multiple B-lactamases produced by Echerichia coli cilinical isolates hospitalized patient in Kerman, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2010.3.137-145.
- 14- Hemalatha V, pamda M, Sekra U, Vinodh MT. Detection of Amp C beta lactamases production in *Escherichia coli*&*Klebsiella* by an inhibitor based method. Indian J Med. 2007; 126: 220-223.
- 15- Clinical and Laboratory Standards Institute: 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21th informational supplement. CLSI/NCCLS M100-S20. 3 (1): Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.
- 16- Mohajeri P, Izadi B, Rezai M, Falahi B, Khademi H, Ebrahimi R. Assessment of the frequency of extended spectrum beta lactamases producing *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections and its antibiotic resistance pattern in Kermanshah. J Ardabil Univ Med Sci. 2011; 11(1): 86-94. (Full text in Persian)
- 17- Tashkori M, Farokhnia M, Zia Sheikholeslami N, Mirzaei T, Yosefi H, Mokhtari F, et al. Evalution of producing extended spectrum beta-Lactamase among isolated escherichia coli from patients suffering from urinary tract infections. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2011; 10(1): 62-68.
- 18- Nakhaee Moghaddam M, Moshrefi S. Determining the antibiotic resistance pattern of urinary isolates of *Escherichia coli* and prevalence of extended-spectrum -lactamase (ESBLs) among them. J Sabzevar Uni Med Sci. 2010; 16 (4): 228-233.
- 19- Behroozi A, Rahbar M, Vand Yousefi J. A study on prevalence of extended-spectrum -lactamase (ESBLs) producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolated from urinary specimens in Milad Hospital. J Med Microbiol. 2010; 4(1): 27-34.
- 20- Babaii Kochaksaraii M, Nasrolahi Omran A, Javid N, Shakeri F, Yazdi M, Ghaemi E A. Extended spectrum beta lactamase producing *E.coli* isolated from Gorgan, North of Iran. J Gorgan Univ Med Sci. 2010-11; 6(1):51-58.
- 21- Sharifi Yazdi MK, Azarsa M, Shirazi MH, Rastegar Lari A, Owlia P, Fallah Mehrabadi J, et al. The Frequency of Extended Spectrum Beta Lactamase and CTX M-I of escherichia coli isolated from the urinary tract infection of patients by phenotypic and PCR methods in the city of Khoy in Iran. J Zanzan Uni Med Sci. 2011; 19(77): 53-61.
- 22- Mirsalehian A, Jabalameli F, Mirafshar SM, Bazarjani F, Gorjipor A, Goli HR. Determination of antimicrobial resistance patterns and extended spectrum lactamases in clinical isolates of *E. coli*. J Tehran Uni Med Sci. 2008; 66(6): 373-378.
- 23- Shahcheraghi F, Noveiri H, Nasiri S. Detection of bla TEM & bla SHV genes among clinical isolates of *E.coli* from Tehran hospitals. J Med Microbiol. 2008.1(3):1-8.
- 24- Moyo S, Aboud S, Kasubi M, Lyamuya E, Maselle S. Antimicrobial resistance among producers and non-producers of extended spectrum betalactamases in urinary isolates at a tertiary Hospital in Tanzania. BMC Res Notes. 2010; 3:348.
- 25- Abdulrahman Abdulla Kader, Angamuthu Kumar. Prevalence and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a general hospital. Ann Saudi Med. 2005; 25(3): 239-242.
- 26- Blomberg B, Jureen R, Manji KP, Tamim BS, Mwakagile DSM, Urasa WK, et al. High rate of fatal cases of pediatric septicemia caused by gram-negative bacteria with extended-spectrum beta-lactamases in Dar al Salaam, Tanzania. J Clin Microbiol. 2005; 43(2): 745-9.